Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter)

# Untersuchungen über die Ursache von Unverträglichkeitserscheinungen nach PVNO-Applikation

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Marianne Meyer-Hammer

1983

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
an der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter)

# Untersuchungen über die Ursache von Unverträglichkeitserscheinungen nach PVNO-Applikation

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Medizin
der
Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Marianne Meyer-Hammer

1983

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Der Dekan
gez.: Prof.Dr.H.Th.Brüster

I. Berichterstatter
gez.: Prof.Dr.H.-W.Schlipköter

II. Berichterstatter
gez.: Prof.Dr.Th.Peters

Frau Berta A s c h e r ,
meiner verständnisvollen Haushälterin
in Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543909_0104

INHALTSVERZEICHNIS SEITE


| | | |
|---|---|---|
| 1. | EINLEITUNG ..... | 1 |
| 2. | MATERIAL UND METHODIK ..... | 5 |
| 2.1 | Material ..... | 5 |
| 2.1.1 | Polyvinylpyridin-N-oxid (PVNO) ..... | 5 |
| 2.1.2 | Polyvinylpyrrolidon (PVP) ..... | 5 |
| 2.1.3 | Quarz ..... | 6 |
| 2.1.4 | Versuchstiere ..... | 6 |
| 2.2 | Methodik ..... | 7 |
| 2.2.1 | Tyrosin-Bestimmung durch UV-Absorptionsmessung ..... | 7 |
| 2.2.2 | Doppeldiffusionsmethode nach OUCHTERLONY .... | 8 |
| 2.2.3 | Latex-Fixationstest nach SINGER und PLOTZ ... | 9 |
| 2.2.4 | Intrakutantestung ..... | 9 |
| 2.2.5 | Immunisierung vor und nach Quarzbehandlung der Kaninchen ..... | 10 |
| 2.2.6 | Humantestung ..... | 15 |
| 2.2.7 | Blutsenkungsreaktionen nach Applikation von PVNO und PVP ..... | 18 |
| 3. | ERGEBNISSE ..... | 20 |
| 3.1 | Ergebnisse der Immunisierungsversuche vor und nach Quarzbehandlung ..... | 20 |
| 3.2 | Ergebnisse der immunologischen Humantestung . | 22 |
| 3.3 | Ergebnisse der Senkungsversuche ..... | 22 |
| 4. | DISKUSSION DER ERGEBNISSE AUS DEN SENSIBILISIERUNGSVERSUCHEN AN KANINCHEN, DER HUMANTESTUNG UND AUS DEN SENKUNGSVERSUCHEN ..... | 31 |
| 5. | ZUSAMMENFASSUNG ..... | 38 |
| 6. | LITERATUR ..... | 40 |

## 1. EINLEITUNG

Den Anstoß, die Antigenität von PVNO zu prüfen, gaben klinische Beobachtungen an Silikosepatienten, die mit Polyvinylpyridin-N-oxid (PVNO) behandelt wurden. In seltenen Fällen klagten die Patienten während einer erstmaligen, raschen intravenösen Injektion von PVNO über Übelkeit, Schwächegefühl, Schwindel und Druckgefühl im Oberbauch. Vereinzelt kam es erst bei erneuter i.v.Gabe nach einem Behandlungsintervall zu kollapsähnlichen Zuständen. Man deutete diese Reaktionen als Überepmpfindlichkeit bzw. als anaphylaktischen Schock und hielt PVNO für das auslösende Agens. Vom klinischen Erscheinungsbild her schien das Vorliegen einer Antigen-Antikörper-Reaktion eine einleuchtende Interpretation zu sein. In früheren Arbeiten wurden bereits die Fragen einer Histaminfreisetzung durch PVNO (ANTWEILER und SCHLIPKÖTER, 1973), der allgemeinen Verträglichkeit (KUHKALANI,1975) und der Antigenität (ANTWEILER und MEYER-HAMMER, 1975) überprüft. Die Symptome, die bei erstmaliger, rascher Injektion von PVNO beobachtet wurden, interpretierten ANTWEILER und SCHLIPKÖTER (1973) nach tierexperimentell gewonnenen Ergebnissen, bei denen weder eine lokale noch eine generalisierte Histaminfreisetzung festgestellt werden konnte, als eine Reaktion, die durch intravasal entstehende Erythrocytenaggregate hervorgerufen wird, die durch Blockierung der Endstrombahn in der Lunge reflektorisch zu einem Absinken des Blutdrucks führen könne. Durch langsame i.v. Injektion des PVNO, am besten als Infusion mit physiologischer Kochsalzlösung, könnten die Symptome vermieden werden.
KUHKALANI (1975) untersuchte die Verträglichkeit des PVNO und seinen Einfluß auf Laborwerte bei neun schwer an Silikose erkrankten Patienten. Es wurden folgende Laboruntersu-

chungen vor, während und nach der Behandlung mit PVNO durchgeführt: a) Leberfunktionstests, b) BSG und Blutstatus, c) Sputumuntersuchung auf Tuberkelbakterien, d) Rest-N, Harnstoff, Harnstoff-N, Kreatinin, Serumelektrolyte und Urinstatus. Die Therapie mit PVNO hatte nach KUHKALANI (1975) keinen nachweisbaren Einfluß auf die genannten Parameter, sie wurde als Injektionsbehandlung durchgeführt, wobei die durchschnittliche Gesamtdosis von 146 mg PVNO/kg Körpergewicht auf mehrere Wochen verteilt wurde, z.T. mit Behandlungspause.

Bei der Beurteilung der allgemeinen Verträglichkeit konnte KUHKALANI (1975) feststellen, daß nur bei einem Patienten die Behandlung mit PVNO abgebrochen werden mußte, da nach einem Behandlungsintervall bei erneuter Gabe kollapsartige Zustände mit Bronchospasmus aufgetreten sind.

Ob diese Symptome, die bei Fortsetzen der Therapie nach einer behandlungsfreien Zeit beobachtet wurden, ebenfalls der Wirkung sich bildender Erythrocytenaggregate zugeordnet werden können, oder ob es sich hierbei um eine allergische Reaktion im Sinne einer Anaphylaxie handelt, bei der das PVNO als Antigen wirkt, konnte nicht abgeklärt werden. Unsere Sensibilisierungs- und Senkungsversuche wurden durchgeführt, um der Lösung dieser Frage näherzukommen.

Zur Prüfung der Frage, ob man im Tierversuch Antikörper gegen PVNO erzeugen und nachweisen kann, versuchten wir in einer früheren Arbeit (ANTWEILER und MEYER-HAMMER, 1975) Kaninchen und Meerschweinchen gegen PVNO zu sensibilisieren. Die Kaninchen bekamen PVNO-Dosen von 7 mg/kg Körpergewicht, die Meerschweinchen 10 mg/kg Körpergewicht. Die Immunisierungen wurden sowohl mit als auch ohne Freund'sches Adjuvans durchgeführt. Mit Hilfe des Doppeldiffusionstestes nach OUCHTERLONY gelang es nicht, Antikörper gegen PVNO nachzuweisen. Auch konnte durch wiederholte intravenöse

Gaben von PVNO weder bei Kaninchen (7 mg/kg), noch bei Meerschweinchen (10 mg/Kg) eine Schockreaktion provoziert werden.
Da es nicht auszuschließen war, daß wir uns mit diesen Dosen im Bereich der Immuntoleranz bzw. -paralyse befanden, haben wir bei Kaninchen eine Immunisierung mit geringeren PVNO-Mengen durchgeführt. Diese Frage erschien uns deshalb berechtigt, weil GILL und KUNZ (1968) bei Kaninchen Antikörper gegen 4 Vinylpolymere, u.a. Polyvinylpyrrolidon (PVP) nachgewiesen haben, wenn sehr niedrige Dosen von 100, 10 und 1 /ug wiederholt gegeben wurden, während MAURER (1956) nach der Applikation einer Gesamtdosis von 3000-7000 /ug PVP/kg Körpergewicht bei Kaninchen keine Antikörper gegen PVP erzeugen konnte und Immunparalyse schon in Betracht zog. Da PVP chemisch Ähnlichkeit mit PVNO zeigt, (siehe unten), wollten wir 1. die Versuche von GILL und KUNZ wiederholen und 2. feststellen, ob auch durch niedrige Dosen von PVNO Antikörper gegen diese hochpolymere Substanz erzeugt werden können.
Die Sensibilisierungsversuche führten wir zuerst an unbehandelten Kaninchen durch, danach wurden sie an denselben Tieren wiederholt, nachdem sich an ihnen nach der einmaligen Gabe einer Quarzsuspension silikotische Veränderungen entwickelt haben und somit eine andere Reaktionslage des Organismus vorlag, die der eines an Silikose erkrankten Menschen eher vergleichbar ist. Durch intraperitoneale Quarzapplikation vor der erneuten Sensibilisierung erreichten wir eine Fibrosebildung im Bauchraum: die Knötchen waren bis haselnußgroß und gut tastbar.
Außerdem haben wir das Blut eines Patienten, der Unverträglichkeitserscheinungen gezeigt hatte, immunologisch untersucht.
Schließlich führten wir bei Kaninchen und Patienten einen Intracutantest durch, um eine zellvermittelte Immunität zu erfassen.

Daß Kolloide auf die Erythrocytensenkungsgeschwindigkeit einen erhöhenden Einfluß ausüben können, ist schon länger bekannt und mehrfach untersucht worden. Eine Zusammenfassung und Interpretation der Ergebnisse finden wir bei HAHN (1961), der auch ein umfangreiches Literaturverzeichnis angibt. Er kommt zu folgenden Schlüssen: Die beschleunigende Wirkung des Kolloidons (PVP) und anderer Kolloide auf die Blutkörperchensenkung beruht auf deren Bindung an die Oberfläche der Erythrocyten; diese Adsorption an die Oberfläche bewirkt die Agglomeration oder Pseudoagglutination, die in Beziehung zu intravasalen Zusammenballungen der Erythrocyten, dem sogenannten "sludge-blood-phenomenon" steht. Die Größe des Molekulargewichtes spielt dabei eine entscheidende Rolle, denn nur höhere Molekulargewichte zeigen eine Wirkung.
ANTWEILER (1963) untersuchte die Wirkung von PVNO auf die Erythrocyten- bzw. Blutsenkungsgeschwindigkeit in vitro und in vivo an Ratten. Er verwendete bei seiner Arbeit PVNO als Substanz P 204 (1%) mit dem Molekulargewicht 70 000. Als Vergleichssubstanzen wählte er PVP als Periston-N (M 12 600) und Periston (M 30 000), außerdem monomeres Pyridin-N-oxid, 4-Methylpyridin-N-oxid und Dextran (M 80 000 - 200 000).

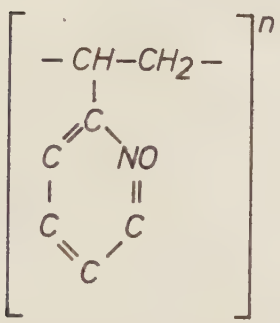
Bei diesen in vitro-Versuchen war entscheidend, daß das P 204 im Senkungsmedium, entweder Plasma oder physiologische Lösung, enthalten war; eine vorübergehende Inkubation der gewaschenen Erythrocyten in einer P 204-Lösung vor der Senkungsreaktion beeinflußte die Geschwindigkeit der Erythrocytensenkung nicht. Die Vergleichssubstanzen zeigten keine Wirkung.
Bei den Ratten, die P 204 subkutan injiziert bekamen, konnte man die stärkste Senkungsbeschleunigung 60 min nach der Injektion ablesen. Die anderen Polymeren wurden von ANTWEILER einer in vivo-Prüfung nicht unterzogen.
Die Wirkung von PVNO (M 150 000) auf die Blutsenkungsge-

schwindigkeit in vivo und in vitro wollten wir bestätigen und haben gleichzeitig PVP (M 350 000) (wie im Sensibilisierungsversuch) und PVP von niedrigerem Molekulargewicht verwendet.

## 2. MATERIAL UND METHODIK

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Polyvinylpyridin-N-oxid (PVNO)



PVNO lag als Präparat 3504 (BAYER) in 2%iger Lösung in physiologischer Kochsalzlösung vor.
Molekulargewicht: 150 000
(Zusatz pro l (1008,0 g) neben Bay 3504-Hydrochlorid (Menge entsprechend 20,0 g Base) jeweils 1,2g Solbrol M* und 0,2 g Solbrol P* als Konservierungsstoffe.

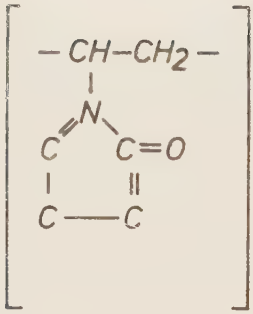
* Solbrol M = p-Hydroxybenzoesäuremethylester
* Solbrol P = p-Hydroxybenzoesäurepropylester

Die Lösungen sind durch Zusatz von ca. 8 g Natriumkarbonat (wasserfrei) auf etwa pH 5 eingestellt (AICHINGER, 1976).

Die Verdünnungen wurden mit 0,9%iger NaCl-Lösung hergestellt, beim Latextest jedoch mit Boratpuffer.

#### 2.1.2 Polyvinylpyrrolidon (PVP)

PVP (Serva, Nr. 33410, MG 350 000)



PVP lag als Pulver vor: die Lösungen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung bzw. mit Boratpuffer hergestellt

Diese PVP-Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht wurden nur bei den Senkungsversuchen verwendet:
PVP (M 40 000) Fluka, K 30 P 5639
PVP (M 25 000) Serva Nr. 33420
PVP (M 10 000) Serva Nr. 33422.

### 2.1.3 Quarz

Zur Erzeugung einer Fibrosebildung wurde Quarz 7, Doerentrup Nr. 12, Teilchengröße $< 5$ µg Kaninchen intraperitoneal verabreicht (siehe auch unter 2.2.5).

### 2.1.4 Versuchstiere

Für die Sensibilisierungsversuche wurden weiße, weibliche Neuseelandkaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 2,3 kg verwendet. Sie erhielten Standardfutter und Trinkwasser ad libitum.
Für die Senkungsversuche wurden Wistarratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 175 g genommen, außerdem weiße, weibliche Neuseelandkaninchen.

## 2.2 Methodik

Zur Prüfung der Antikörper gegen PVNO (bzw. PVP) verwendeten wir vier verschiedene Testmethoden. Drei Methoden beruhen auf dem Nachweis der Bildung praezipitierender Antigen-Antikörper-Komplexe in vitro, die Intrakutantestung dient dem Nachweis einer zellvermittelten Immunreaktion in vivo.

### 2.2.1 Tyrosin-Bestimmung durch UV-Absoprtionsmessung

Diese Methode wurde erstmalig von EISEN (1948) beschrieben und u.a. auch von GITLIN (1949) und GILL und DOTY (1961), sowie von GILL und KUNZ (1968) angewendet. Durch den spektrophotometrischen Nachweis von Tyrosin in den Immunpraezipitaten werden diese bestimmt. Hierbei werden 0,5 ml Antigenlösung mit 0,5 ml Serum gemischt und für 4 Tage im Kühlschrank bei +4°C inkubiert. (Eine 1 h-Inkubation bei 37°C brachte kein anderes Ergebnis). Danach werden die Praezipitate für 30 min bei 3000 U/min abzentrifugiert, der Überstand wird vorsichtig angeschüttet und aufbewahrt. Der Bodensatz wird mit 2 ml physiologischer NaCl-Lösung von Raumtemperatur gewaschen und nochmals für 30 min bei 3000 U/min zentrifugiert. Der Waschvorgang und das Zentrifugieren werden 1 mal wiederholt. Dann wird der Bodensatz zur Lösung der Praezipitate in 1,5 ml 0,25 M Essigsäure aufgenommen. Diese Proben werden gegen Essigsäure spektrophotometrisch bei 277 nm gemessen.

Die UV-Absorptionsmessung führten wir am Spektrophotometer Unicam SP 800 durch.
Die Überstände wurden stichprobenartig dahingehend überprüft, ob im Antigen- oder Antikörperüberschußbereich ge-

arbeitet wurde. Dazu haben wir die Überstände von jedem Röhrchen in je 2 gleiche Teile A und B geteilt: Zu jedem Röhrchen der Reihe A wurden 0,1 ml Antigenlösung, zu dem Röhrchen der Reihe B 0,1 ml des entsprechenden Serums zugegeben (STEFFEN, 1968).
Diese Ansätze wurden nach oben beschriebener Methode behandelt und die Absorption spektrometrisch bestimmt.

### 2.2.2 Doppeldiffusionsmethode nach OUCHTERLONY

Zum OUCHTERLONY-Test (STEFFEN, 1968) wurden Petrischalen mit 1,5%iger, cialithaltiger Agarlösung beschickt und zum Einfüllen der Polymerlösungen PVNO bzw. PVP (Antigen) und der Seren in Abständen von 6 bzw. 10 mm Löcher (4 mm bzw. 10 mm Ø) ausgestanzt, die Einfüllmenge von Antigen-Lösung bzw. Serum betrug 0,02 bzw. 0,1 ml.
Die Platten wurden für das Serum jedes Versuchstieres in zwei Ausführungen beschickt:

Serie $\alpha$ )
Mittelloch
(Antikörper): Serum unverdünnt

Randlöcher
(Antigen): PVNO- bzw. PVP-Lösungen vom Versuch (Verdünnungsreihe bis 1:32)

Serie $\beta$ )
Mittelloch
(Antigen): PVNO- bzw. PVP-Lösung vom Versuch (unverdünnt)
Randlöcher
(Antikörper): Serumverdünnungen bis 1:32

Zur Diffusionsentwicklung wurden die Schalen bis zu 7 Tagen in einer feuchten Kammer bei Raumtemperatur gehalten und

täglich auf sich bildende Praezipitationslinien hin beobachtet.

### 2.2.3 Latex-Fixationstest nach SINGER und PLOTZ

Wir wollten zur Darstellung einer möglichen Antigen-Antikörper-Reaktion außer der Doppeldiffusion eine Methode anwenden, die Antigen-Antikörper-Komplexe "vergrößert" darstellt; sollten nur geringe Mengen an Antikörpern vorhanden sein, hofften wir, sie mittels einer Agglutinationsmethode sichtbar machen zu können.
Die Originalmethode des Latex-Fixationstestes nach SINGER und PLOTZ (1956) wandelten wir für unsere Verhältnisse ab, indem wir an Stelle der 0,5%igen Globulinlösung eine 0,5%ige PVNO-Lösung und statt des Patientenserums von Rheumakranken Serum unserer mit PVNO bzw. PVP behandelten Kaninchen verwendeten. Bei der Humantestung nahmen wir das Patientenserum.
Wir führten den Test im wesentlichen nach den Anweisungen von SINGER und PLOTZ durch.
Da PVNO sich nachweislich in vitro gut an die Oberfläche von Quarzteilchen bindet (ANTWEILER und DJIE, 1971), versuchten wir auch eine Abwandlung des Testes insofern, als wir anstelle von Latexpartikeln Quarzteilchen als Suspension verwendeten und mit der 0,5%igen PVNO-Lösung und dem Kaninchenserum nach dem Verfahren von SINGER und PLOTZ koppelten. Doch brachte dies keine verwertbaren Ergebnisse und wurde nicht weiter verfolgt.

### 2.2.4 Intrakutantestung

Die Intrakutantestung bei den Versuchskaninchen wurde so durchgeführt, daß ein Bezirk von 5 x 5 cm der Rückenhaut

rasiert und mit 70%igem Alkohol desinfiziert wurde. Auf dieser Hautstelle wurden intrakutan Quaddeln mit je 0,1 ml PVNO-Lösungen (10 und 1 mg/ml) gesetzt. Wir beobachteten, ob dort sofort oder einige Tage später Veränderungen auftraten, die auf humorale oder zellulär vermittelte Immunantwort hätten schließen lassen können (dieser Test wurde nur bei der zweiten Versuchsreihe durchgeführt).
Die Anwendung des Intrakutantestes beim Menschen wird unter 2.2.6 beschrieben.

### 2.2.5 Immunisierung

Vor Beginn der Versuche wurde den Kaninchen Blut entnommen, und die daraus gewonnenen Seren wurden nach denselben Methoden untersucht wie die späteren Versuchsseren. Es wurde dadurch überprüft, ob möglicherweise schon vorhandene Antikörper die Untersuchungen stören könnten.

In einer ersten Versuchsreihe wurden 2 Gruppen und eine Kontrollgruppe von je 4 Kaninchen in Anlehnung an ein Schema sensibilisiert, das GILL und KUNZ (1968) angewendet haben. Als zweite Versuchsreihe wurde eine Wiederholung und Erweiterung der ersten durchgeführt. Drei Monate nach Beendigung der 2. Versuchsreihe wurde den Kaninchen eine Quarzsuspension intraperitoneal injiziert, und zwar bekam ein Tier pro Gruppe 500 mg Quarz (suspendiert in 10 ml physiologischer Kochsalzlösung) und ein anderes 250 mg Quarz (in 5 ml Lösung). Die Quarzsuspension wurde auf dem Magnetrührer bei 37°C gehalten und körperwarm gespritzt. Fünf Wochen später, nachdem sich bis haselnußgroße, gut tastbare Knoten entwickelt hatten, wurde der Sensibilisierungsversuch wiederholt. Vor Beginn der erneuten Immunisierung, aber nach der Quarzgabe, wurde das Blut der

Tiere mit den drei beschriebenen in vitro-Methoden daraufhin untersucht, ob sich in der Zwischenzeit Antikörper gegen PVNO bzw. PVP gebildet hatten. Jeder Versuch dauerte 4-5 Monate.

Folgende Tabellen stellen die Versuchsverhältnisse dar:

Zur ersten Versuchsreihe:

3 Gruppen von je 4 Versuchstieren

| Gruppe | Sensibilisierung (S) | Boosterung (B) |
|---|---|---|
| I | 1 µg PVNO in 1 ml NaCl-L. i.v. + 0.5 ml Freundsches Adjuvans s.c. | 1 µg PVNO in 1 ml NaCl-L. i.v. (3 x) |
| II | 10 µg PVNO in 1 ml NaCl-L. i.v. + 0.5 ml Freundsches Adjuvans s.c. | 10 µg PVNO in 1 ml NaCl-L.i.v. (3 x) |
| III (Kontrolle) | --- 0.5 ml Freundsches Adjuvans s.c. | --- |

Nach der Sensibilisierung wurde 4 mal im Abstand von 4 Wochen und einmal im Abstand von 5 Wochen den Kaninchen Blut aus der Ohrarterie entnommen und die daraus gewonnenen Seren wurden jedesmal nach der UV-Absorptionsmessung und der OUCHTERLONY-Doppeldiffusionsmethode auf praezipitierende Antikörper untersucht. Drei bzw. 2 Tage vor der Blutentnahme wurden die Tiere der Gruppe II mit entsprechenden Mengen PVNO geboostert. Bei den Tieren der Gruppe I

war dies genauso geplant, jedoch fiel die ganze Gruppe nach der 2. Blutentnahme einer Darminfektion zum Opfer.
Die Ansätze für die UV-Absorptionsmessung wurden für jedes Serum bei jeder Blutentnahme hergestellt:
Gruppe I 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO ( 1 /ug/ml)
Gruppe II 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO ( 10 /ug/ml)
Gruppe III 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO ( 10 /ug/ml)
und nach oben beschriebenem Verfahren weiterbehandelt.

Bei der OUCHTERLONY-Methode verwendeten wir bei der Serie $\alpha$ für die Randlöcher PVNO-Konzentrationen von:
10 /ug/ml, 5 /ug/ml, 2,5 /ug/ml, 1,25 /ug/ml,
0,625 /ug/ml, 0,312 /ug/ml,
und bei der Serie $\beta$ für die Mittellöcher eine PVNO-Konzentration von 10 /ug/ml.

Der folgende Versuchsplan für die 2. Versuchsreihe wurde auch für die Sensibilisierung nach der Quarzapplikation angewendet. Fünf Gruppen von je 3 Kaninchen wurden nach folgendem Schema behandelt:

| Gruppe | Sensibilisierung (S) | Boosterung (B) |
|---|---|---|
| I | 10 /ug PVNO in 1 ml physiol.NaCl-Lösung + 0,5 ml Freundsches Adjuvans gemischt i.m. | 2 x i.m. |
| II | 10 /ug PVP in 1 ml physiol.NaCl-Lösung + 0,5 ml Freundsches Adjuvans gemischt i.m. | 2 x i.m. |
| III (Kontrolle) | 1 ml physiol.NaCl-Lösung + 0,5 ml Freundsches Adjuvans gemischt i.m. | 2 x i.m. |
| IV | 1 /ug PVNO in 1 ml physiol.NaCl-Lösung + 0,5 ml Freundsches Adjuvans gemischt i.m. | 1 x i.m. |
| V | 0,5 mg PVNO in 0,5 ml physiol.NaCl-Lösung i.v. | Gesamtdosis bis 20 mg innerhalb 4 Wochen 3 x wöchentlich i.m. 1 x wöchentlich i.v. (siehe Text) |

Die Gruppen I bis III wurden, ähnlich wie im ersten Versuch, nach den Angaben von GILL und KUNZ (1968) sensibilisiert und geboostert. Dabei werden die Substanzen PVNO und PVP mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt bzw. gelöst und mit Freund'schem Adjuvans nach Vorschrift von STEFFEN (1968) vermischt und die entsprechende Menge intramuskulär jedem Tier (verteilt auf beide Hinterschenkel) verabreicht. Gruppe III sollte als Kontrolle dienen und bekam nur NaCl-Lösung und Freund-Adjuvans.
Die erste Blutentnahme fand 4 Wochen nach der Sensibilisierung statt, 3 weitere folgten im Abstand von je 4 Wochen. Geboostert wurde 4 Tage vor der 3. und 4. Blutentnahme (Substanz + Freund'sches Adjuvans i.m.). Das Sensibilisierungsverfahren von Gruppe IV ist ebenfalls bei GILL und KUNZ angegeben, wurde aber in der 1. Versuchsreihe nicht angewendet. Die Kaninchen wurden 15 Wochen nach der Sensibilisierung mit PVNO, vermischt mit Freund'schem Adjuvans, intramuskulär mit derselben Menge geboostert. Die Blutentnahmen zur Serumgewinnung wurden 4 Wochen nach der Sensibilisierung und 3 Wochen nach der Boosterung vorgenommen.
Die Gruppe V wurde über 4 Wochen hin 4 mal wöchentlich geboostert. Wir imitierten dabei die erfolgreiche Sensibilisierung mit Ovalbumin nach KABAT, die wir zur Kontrolle unserer Arbeitsweise an Kaninchen außerhalb dieser Versuchsreihe durchgeführt hatten. Gleichzeitig wurde damit nochmals die Möglichkeit einer Sensibilisierung in mg-Bereich geprüft.
Die Gesamtmenge PVNO für jedes Kaninchen der Gruppe V betrug 20 mg und wurde in Einzeldosen aufgeteilt:
Dabei verdünnten wir die 2%ige Originallösung von PVNO 1:10, dann enthielt 1 ml davon 2 mg PVNO.

Davon erhielt jedes Tier:

1. Woche: 4 x 0,5 mg (0,25 ml) = 2,0 mg PVNO
2. Woche: 4 x 1,0 mg (0,5 ml) = 4,0 mg PVNO
3. Woche: 4 x 1,5 mg (0,75 ml) = 6,0 mg PVNO
4. Woche: 4 x 2,0 mg (1,0 ml) = 8,0 mg PVNO

20,0 mg PVNO

Montags, donnerstags und freitags wurde die entsprechende Menge intravenös in die Ohrvene appliziert, dienstags wurde die Mischung aus PVNO und der entsprechenden Menge Freund'schem Adjuvans intramuskulär auf beide Hinterschenkel verteilt injiziert. Eine Woche nach der letzten Boosterung wurde an 3 aufeinanderfolgenden Tagen Blut entnommen, die Seren gemischt und untersucht.

Die Ansätze für die UV-Absorptionsmessung wurden für jedes Serum von jeder Blutentnahme hergestellt und nach dem oben beschriebenen Verfahren behandelt:

| Gruppe: | Ansatz zur Absorptionsmessung: |
|---|---|
| I | 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO (10 µg/ml) |
| II | 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVP (10 µg/ml) |
| III | 0,5 ml Serum + 0,5 ml NaCl-Lösung |
| IV | 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO ( 1 µg/ml) |
| V | 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO (20 mg/ml) |

Bei der OUCHTERLONY-Methode wurden für die Seren der Gruppen I und II bei der Serie $\alpha$ für die Randlöcher Konzentrationen von PVNO bzw. PVP von 10 µg/ml, 5 µg/ml, 2,5 µg/ml, 0,625 µg/ml, 0,312 µg/ml, bei Serie $\beta$ für die Mittellöcher 10 µg/ml PVNO bzw. PVP verwendet.

Für die Seren der Gruppe IV wurden bei Serie $\alpha$ für die Randlöcher folgende PVNO-Verdünnungen verwendet: 1 µg/ml, 0,5 µg/ml, 0,25 µg/ml, 0,125 µg/ml, 0,06 µg/ml, für die Mittellöcher bei Serie $\beta$ PVNO 1 µg/ml.

Für die Seren der Gruppe V wurden bei Serie $\alpha$ für die Randlächer folgende PVNO-Verdünnungen gebraucht: 20 mg/ml, 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml, für die Mittellöcher der Serie $\beta$ PVNO 20 mg/ml.

Die Konzentrationen von PVNO und PVP, die für die Intrakutantestung angewendet wurden betrugen 10 mg/ml und 1 mg/ml in steriler, physiologischer Kochsalzlösung.

Für den Latextest wurden die Latexstammlösung und der Boratpuffer nach Vorschrift hergestellt, jedoch wurde die Stammlösung vor dem Filtern für 3 min. bei 2500 U/min zentrifugiert (nach STEFFEN, 1968). Für die Testlösung wurde das 2%ige PVNO mit Boratpuffer auf 0,5% verdünnt, die 0,5%igen PVP-Lösungen wurden ebenfalls mit Boratpuffer angesetzt.

Das Beschicken der 10 Teströhrchen mit je 1 ml Testlösung und je 1 ml Serumverdünnung (mit Boratpuffer) von 1:20 bis 1:5120, Inkubieren bei 56° für 2 Std. im Wasserbad, danach 3 min. bei 2300 U/min. Zentrifugieren sowie die Beurteilung der Agglutination mit bloßem Auge, wurde nach dem Originalverfahren durchgeführt.

### 2.2.6 Humantestung (immunologisch)

Wir hatten im März 1976 Gelegenheit, das Blut eines mit PVNO behandelten 69jährigen Silikosepatienten (100% Silikose) zu untersuchen, bei dem während der Anwendung von PVNO nach einem Behandlungsintervall kollapsähnliche Zustände aufgetreten waren. Der Patient war auch bereit, sich einem Intrakutantest zu unterziehen.
Zu seiner Anamnese folgendes: Im Juni 1974 sei ihm nach

einer Behandlungspause von einigen Wochen erneut eine Infusion mit PVNO angelegt worden. Sehr bald nach Beginn des Einlaufens der Flüssigkeit habe er Schweißausbrüche bekommen und ein Gefühl von Unwohlsein gehabt. Er sei sich vorgekommen, als sei er nicht mehr richtig da. Der herbeigerufene Arzt habe die Infusion sofort abgebrochen. Eine weitere Behandlung mit PVNO sei nicht mehr durchgeführt worden, da man seine Beschwerden als allergische Reaktion gedeutet habe.

Wir haben das Serum dieses Patienten ebenfalls nach den drei beschriebenen Methoden untersucht. Außerdem wurde ein Intrakutantest durchgeführt. Beim Ansatz zur UV-Absorptionsmessung inkubierten wir verschiedene Konzentrationen von PVNO mit dem Patientenserum, um einen Variationsbereich für die Antigen-Antikörper-Komplexbildung zu erreichen. Die obere Grenze des Bereichs ist uns gesetzt durch die Eigenschaft von PVNO, ab ca. 3 mg/ml nach zweimaligem Spülen der "Praezipitate" an der Glaswand des Röhrchens haften zu bleiben und bei der Absorptionsmessung bei 260 nm wieder in Lösung, störend in Erscheinung zu treten. )
Als untere Grenze der Antigenkonzentration wurde 1 µg/ml festgesetzt.

---

) Anmerkung:

Dieses Phänomen trat bei der Untersuchung der Gruppe V auf, wobei als "Antigenlösung" 20 mg PVNO/ml verwendet wurde. In einem Nebenversuch ermittelten wir die Konzentration von PVNO, die eben diese Erscheinung nicht auftreten läßt; je 1 ml sechs verschiedener PVNO-Konzentrationen 10 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml, 1,25 mg/ml, 0,625 mg/ml und 0,312 mg/ml wird 30 min bei 3000 U/min zentrifugiert, vorsichtig ab- bzw. ausgeschüttet, das Röhrchen wird 2 mal mit physiologischer NaCl-Lösung ausgespült, danach wird je 1,5 ml 0,25 M Essigsäure eingefüllt, diese Proben am UNICAM SP 800 gegen 0,25 M Essigsäure auf den Gehalt an PVNO (260 nm) geprüft. Bei Konzentrationen unter 2,5 mg PVNO/ml blieben keine meßbaren Rückstände von PVNO im Glas zurück.

Folgende Ansätze wurden hergestellt:
1) 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO-Lösung (2,00 mg/ml)
2) 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO-Lösung (1,00 mg/ml)
3) 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO-Lösung (0,10 mg/ml)
4) 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO-Lösung (0,01 mg/ml)
5) 0,5 ml Serum + 0,5 ml PVNO-Lösung (0,001 mg/ml)

Die Ansätze wurden im Kühlschrank bei +4°C für 6 Tage inkubiert, danach 10 min bei 20 000 U/min zentrifugiert und zweimal mit 2 ml physiologischer NaCl-Lösung gewaschen und wieder zentrifugiert. Der Bodensatz wurde in 1,5 ml 0,25 M Essigsäure aufgenommen, und die Proben wurden am UNICAM gemessen.

Bei der OUCHTERLONY-Doppeldiffusionsmethode wurde die Serie $\alpha$ 2fach durchgeführt. Die PVNO-Konzentrationen für die Randlöcher betrugen 2 mg/ml, 1 mg/ml, 0,5 mg/ml, 0,25 mg/ml, 0,125 mg/ml und 0,063 mg/ml und 32 µg/ml, 16 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml, 2 µg/ml und 1 µg/ml. Die Serie $\beta$ wurde 4fach angesetzt, die PVNO-Konzentrationen im Mittelloch waren:
1) 2,00 mg/ml
2) 0,50 mg/ml
3) 0,10 mg/ml
4) 0,01 mg/ml.

Die Latexreihe wurde doppelt angesetzt mit Serumkonzentrationen von 1:10 - 1:5120.

Vor dem Intrakutantest wurde die Haut probeweise mit einer in 2% PVNO-Lösung getauchten Lancette skarifiziert und ca. 15 min beobachtet. Als sich keine Reaktion zeigte, wurde an anderer Stelle eine intrakutane Quaddel mit 0,1 ml 2% PVNO-Lösung gesetzt. Wir beobachteten die Quaddel 20 min lang, konnten aber nichts außer ihrem langsamen, spurlosen Verschwinden bemerken. Nach

einer Stunde hatten wir Mühe, die Einstichstelle überhaupt noch zu finden. Der Patient wurde angewiesen, die Stelle in den nächsten Tagen weiter zu beobachten, um eine Knötchenbildung nicht zu übersehen, welche einer Reaktion vom Tuberkulintyp entsprochen hätte. Doch es haben sich keine Veränderungen an der Haut gezeigt.

### 2.2.7 Blutsenkungsreaktionen nach Applikation von PVNO und PVP

Die Senkungsversuche mit Ratten- und Kaninchenblut wurden ausgeführt, nachdem die Tiere die Polymerlösungen intravenös appliziert bekommen hatten, für die Versuche mit Humanblut wurden die Polymerlösungen in vitro mit dem Blut vermischt.
Den Ratten wurde in Nembutalnarkose (40 mg/kg KG, i.p.) je 1 ml (ca. 115 mg/kg KG) oder je 2 ml (ca. 230 mg/kg KG) einer 2%igen Lösung der genannten Polymere in die Schwanzvene gespritzt, Kontrolltiere bekamen entsprechende Mengen physiologischerKochsalzlösung injiziert. Nach einer Einwirkungszeit von 15 bzw. 60 min wurde den Tieren mittels Herzpunktion je 1,6 ml Blut zu 0,4 ml Natriumcitratlösung entnommen und die Mischung in Westergreenpipetten aufgezogen. Die Senkungswerte wurden nach 1, 2 und 24 Stunden abgelesen.
Den Kaninchen wurden ohne Narkose vor der intravenösen Applikation von durchschnittlich 17 ml der 2%igen Polymerlösung (100 mg/kg KG) in die Ohrvene, Blut zu einer Kontrollsenkung abgenommen (1,6 ml Blut zu 0,4 ml Citratlösung). 30 und 120 Minuten nach der Polymergabe wurden nochmals Blutproben aus der Ohrarterie entnommen, ebenso 15 Tage nach dem Versuch. Alle Proben wurden nach

sorgfältigem Vermischen von Blut und Citratlösung in Westergreenpipetten eingegeben und die Senkungswerte nach 1, 2 und 24 Stunden abgelesen.
Wir konnten bei diesen größeren Tieren im Gegensatz zu den Ratten die Blutproben nach den verschiedenen Einwirkungszeiten von demselben Tier entnehmen, sodaß die intraindividuellen Schwankungsbreiten nicht das Versuchsergebnis belasteten. Weiterhin konnten wir 15 Tage nach der Polymergabe eine zusätzliche Kontrolle durchführen und am einzelnen Tier prüfen, wie weit sich die Veränderungen der Blutsenkungswerte wieder normalisiert hatten, weil die Verbindungen teils über die Niere ausgeschieden, teils im RES gespeichert werden.

Für die Versuche mit Humanblut wurden einer gesunden freiwilligen Versuchsperson 25 ml Venenblut aus der Cubitalvene entnommen. Das Blut wurde sofort mit 2,5 ml Heparinlösung zur Gerinnungshemmung versetzt (0,1 ml Liquemin auf 2,5 ml physiologische Kochsalzlösung).

Je 4 ml Heparinblut wurden mit je 1 ml einer Polymerlösung der angegebenen Polymere in verschiedener Konzentration (2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%) vermischt, sodaß ein Mischungsverhältnis von Blut und Flüssigkeit, ähnlich wie bei der Standardsenkung mit Citrat, entsteht.

Von jeder Probe (zur Kontrolle 4,0 ml Heparinblut + 1 ml physiologische Kochsalzlösung) wurden je 2 Westergreenpipetten beschickt und die Senkungen nach 1, 2, 5 und 24 Stunden abgelesen.

## 3. ERGEBNISSE

### 3.1 Ergebnisse der Immunisierungsversuche vor und nach Quarzbehandlung

Diese Ergebnisse kann man in einem Satz zusammenfassen: mit keiner unserer angewandten Methoden konnten wir Antikörper nachweisen, die die Antigenität von niedrigen Dosen von PVNO und PVP bewiesen hätten:

a) Bei der UV-Absorptionsmethode zeigten sich im Ansatz keine Praezipitate, auch nach dem Zentrifugieren war kein Bodensatz sichtbar. Eine Absorptionskurve ergab sich nicht, die Registrierung unterschied sich nicht von denjenigen der Referenzlösung 0,25 M Essigsäure.
Auch bei einer stichprobenartigen Kontrolle daraufhin, ob wir im Antigen- oder Antikörper-Überschußbereich arbeiteten, fanden wir ebenfalls keine Praezipitate und keine Absorptionskurve.
Als ein Beispiel der vielen Registrierungen, die praktisch alle gleichartig aussehen, seien die Ergebnisse der Gruppe I und der Kontrollgruppe dargestellt. (Die beiden ersten Seren mußten aus technischen Gründen ausnahmsweise mit dem UNICAM SP 1800 untersucht werden).
Zeitlich geordnet finden wir in der Abbildung die Registrierung im Bereich zwischen 250 und 280 nm aufgezeichnet; die beiden letzten Registrierungen zeigen das Ergebnis der Stichproben zur Überstandstestung. Die Überstände stammen von den Serumproben aus der 2. Blutentnahme.

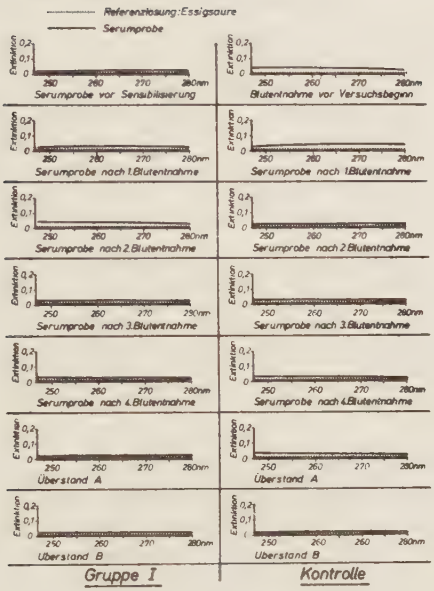



Abbildung 1: Ergebnisse der UV-Absorptionsmessung von Gruppe I und der Kontrollgruppe

b) Im Doppeldiffusionstest konnte bei keinem der vielen Ansätze, die wir mit unseren Serumproben beschickt hatten, eine Praezipitationslinie ausgemacht werden.

c) Im Latextest unterschieden sich die Proben nicht von den Kontrollröhrchen. Eine gleichmäßige Trübung ohne Bodensatz zeichnete alle Röhrchen aus.

d) Beim Intrakutantest war an der Haut der Kaninchen keine Veränderung zu sehen.

3.2 Ergebnisse der immunologischen Humantestung

Wie bei den Tierversuchen, erhielten wir mit keiner der benutzten Methoden ein positives Ergebnis: bei den Patienten ließen sich also zum Zeitpunkt der Untersuchung mit diesen Methoden keine Antikörper gegen PVNO nachweisen. (Auch Serumproben von zwei Patienten, die regelmäßig mit PVNO behandelt worden sind, aber keine Unverträglichkeitssymptome gezeigt haben, sowie eine Blutprobe von einem Patienten, der nach zu schnell erfolgter intravenöser Injektion Übelkeit und Druckgefühl im Oberbauch bekommen hatte, haben wir mit unseren Methoden getestet. Diese Proben fielen ebenfalls negativ aus).
Unsere Methoden sagen nichts darüber aus, ob sich zur Zeit der Infusion, die nicht vertragen wurde, Antikörper im Blut des Patienten befunden haben. Wir können aber im Hinblick auf die jahrelange Speicherung von PVNO im RES schließen, daß sich das "Antigenangebot" nicht wesentlich verändert haben wird, und man deshalb damit rechnen kann, daß ein Prozeß der Antikörperbildung, falls er in Gang gekommen wäre, über 1 3/4 Jahre durchgehalten worden sein könnte.

3.3 Ergebnisse der Senkungsversuche

Beeinflussung der BSR nach Injektion von PVNO-und PVP-Verbindungen an Ratten lassen sich an den Tabellen 1 und 2 ablesen. PVNO und PVP 350 000, die Verbindungen mit hohem Molekulargewicht, bewirkten eine Beschleunigung der Blutsenkungsgeschwindigkeit. Alle anderen Verbindungen haben Werte, die sich nicht von denen der Kontrolle abheben. Dies stimmt mit ANTWEILERs in vivo-Ergebnissen insofern überein, als er nur bei P 204 eine Erhöhung der

Senkung gefunden hatte, nicht aber bei den PVP-Verbindungen mit niedrigem Molekulargewicht. Wie groß der Einfluß des Molekulargewichtes ist, zeigt sich auch an den unterschiedlichen Ergebnissen von PVNO und PVP 350 000. Die Beschleunigung, die durch dieses PVP hervorgerufen wird, ist bis auf eine Ausnahme (2 ml PVNO/60 min) ca. 3 mal höher als durch PVNO.
Die Abhängigkeit von der Dosis ist leicht zu erkennen. Zwei ml der Polymere erzeugen immer die stärkere Beschleunigung der BSG als 1 ml der Polymere. Die Einwirkungszeit von 15 bzw. 60 Minuten beeinflußt die Wirkung von PVP 350 000 nicht, die von PVNO nur bei der Gabe von 2 ml/60 min Einwirkungszeit. Es ist aus der Versuchsanordnung nicht zu erklären, welches der Grund für dieses Verhalten von PVNO ist. Letztlich hat das für unsere Fragestellung auch keine wesentliche Bedeutung. Das grundsätzliche Ergebnis, daß die Veränderung der Senkungsgeschwindigkeit des Blutes vom Molekulargewicht des applizierten Polymeren abhängig ist, wird durch diesen Versuch bestätigt. Außerdem konnten wir feststellen, daß bei PVNO und PVP eine Abhängigkeit zur Dosis besteht.

Diese Ergebnisse wurden mit Hilfe der mehrfachen Varianzanalyse als hochsignifikant abgesichert.

| EINWIRKUNGSZEIT 15 MIN | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 ml 2%ige Lösung der Polymere | Anzahl der Tiere | 1 h | 2 h | 24 h | 2 ml 2%ige Lösung der Polymere | Anzahl der Tiere | 1 h | 2 h | 24 h |
| Kontrolle | 3 | 0,7±0,6 | 1,2±0,3 | 4,3±1,5 | Kontrolle | 2 | 1,0± 1,4 | 1,3± 1,1 | 6,0± 2,1 |
| PVP 10 000 | 3 | 1,0±0 | 1,8±0,3 | 7,7±1,2 | PVP 10 000 | 2 | 0,8± 0,4 | 1,5± 0,1 | 5,0± 0,1 |
| PVP 25 000 | 2 | 1,0±0 | 2,0±0 | 7,3±0,4 | | | | | |
| PVP 40 000 | 3 | 1,0±0 | 1,7±0,6 | 7,0±1,7 | PVP 40 000 | 2 | 0,3± 0,4 | 1,8± 0,4 | 7,5± 0,1 |
| PVNO | 3 | 2,7±2,1 | 3,7±2,1 | 10,3±3,2 | PVNO | 4 | 10,8± 6,2 | 15,3± 6,1 | 33,6± 9,1 |
| PVP 350 000 | 3 | 13,3±3,1 | 21,3±4,4 | 37,0±6,2 | PVP 350 000 | 3 | 38,7±12,8 | 63,3±17,0 | 104,0±16,1 |

Tabelle 1: Mittelwerte und Standardabweichungen der Senkungswerte in mm (Westergren) bei der RATTE nach i.v. Applikation von 1 bzw. 2 ml der 2%igen Lösungen der Polymere nach einer Einwirkungszeit von 15 min.

| EINWIRKUNGSZEIT 60 MIN | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 ml 2%ige Lösung der Polymere | Anzahl der Tiere | 1 h | 2 h | 24 h | 2 ml 2%ige Lösung der Polymere | Anzahl der Tiere | 1 h | 2 h | 24 h |
| Kontrolle | 5 | 0,8±0,3 | 1,6±0,1 | 8,5± 2,8 | Kontrolle | 2 | 1,5±0,1 | 3,0± 1,4 | 9,8± 0,4 |
| PVP 10 000 | 4 | 0,6±0,3 | 1,3±1,2 | 6,4± 3,4 | PVP 10 000 | 2 | 0,3±0,4 | 1,8± 0,4 | 7,0± 1,4 |
| PVP 25 000 | 4 | 0,5±0,1 | 1,6±0,9 | 10,4± 2,3 | | | | | |
| PVP 40 000 | 2 | 3,0±0 | 5,1±0,1 | 10,0± 1,4 | PVP 40 000 | 2 | 1,0±0 | 1,5± 0 | 9,5± 0,1 |
| PVNO | 4 | 2,5±0,4 | 4,6±1,3 | 14,8± 3,1 | PVNO | 3 | 25,0±7,8 | 55,0± 9,2 | 94,5± 9,4 |
| PVP 350 000 | 4 | 10,6±5,8 | 20,6±9,7 | 36,0±20,2 | PVP 350 000 | 3 | 36,3±12,9 | 76,3±15,7 | 115,7±12,5 |

Tabelle 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der Senkungswerte in mm (Westergren) bei der RATTE nach i.v. Applikation von 1 bzw. 2 ml der 2%igen Lösungen der Polymere nach einer Einwirkungszeit von 60 min.

Aus der Tabelle 3 kann man entnehmen, daß PVNO und PVP 350 000 auch bei Kaninchen eine erhebliche Beschleunigung der Blutsenkungsgeschwindigkeit hervorriefen, PVNO wieder in geringerem Ausmaß als PVP 350 000. Ein leichtes Nachlassen der Wirkung konnte bei PVNO nach 120 Minuten Einwirkungszeit beobachtet werden, 15 Tage nach der PVNO-Gabe hatten sich die Werte wieder auf die Kontrollwerte vor der Polymergabe eingestellt. Bei den Tieren, die PVP 350 000 bekommen hatten, waren nach 15 Tagen die Kontrollwerte noch nicht ganz erreicht.

Wieder wird bestätigt, daß PVNO und noch mehr PVP 350 000 eine hohe Beschleunigung der Blutsenkungsgeschwindigkeit nach entsprechender intravenöser Applikation hervorrufen.

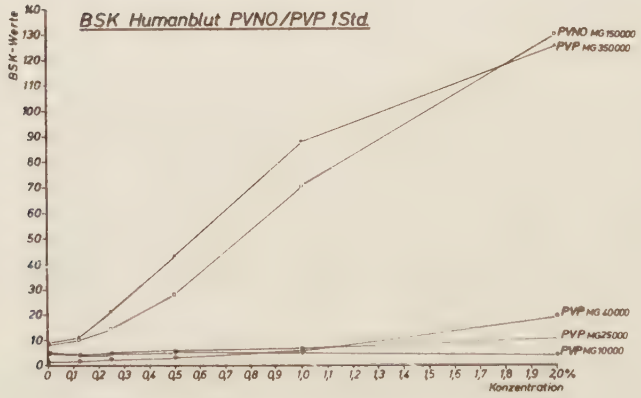
Diese Ergebnisse wurden mit Hilfe der mehrfachen Varianzanalyse als hochsignifikant abgesichert.

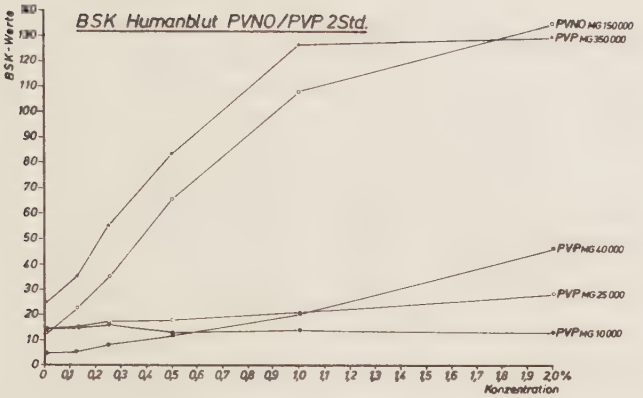
Tabelle 3: Mittelwerte und Standardabweichungen der Senkungswerte in mm (Westergren) beim KANINCHEN nach i.v. Applikation von durchschnittlich 17 ml (100 mg/kg KG) einer 2%igen Lösung der Polymeren PVNO und PVP (M 350 000)

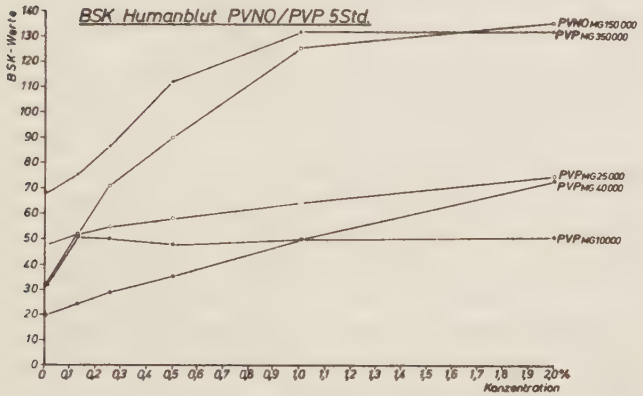
| | PVNO 100 mg/kg KG | | | PVP 100 mg/kg KG | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1 h | 2 h | 24 h | 1 h | 2 h | 24 h |
| Normalsenkung vor Gabe der Polymeren | 1,0±0 | 2,0±0 | 15,7± 1,7 | 1,0±0 | 2,4± 1,0 | 16,9± 5,8 |
| Anzahl der Proben | 6 | | | 6 | | |
| 30 min nach Gabe der Polymeren | 8,0±0,9 | 21,7±1,5 | 54,0± 6,0 | 17,1±9,1 | 27,5±11,7 | 50,4±11,8 |
| Anzahl der Proben | 3 | | | 4 | | |
| 120 min nach Gabe der Polymeren | 7,8±2,1 | 16,3±4,6 | 47,9±12,1 | 16,9±4,2 | 34,4±11,0 | 74,5±13,0 |
| Anzahl der Proben | 4 | | | 4 | | |
| 15 Tage nach Gabe d.Polymeren | 0,8±0,3 | 2,3±0,7 | 17,6± 5,6 | 1,4±0,7 | 3,9± 2,6 | 30,2±12,9 |
| Anzahl der Proben | 6 | | | 6 | | |

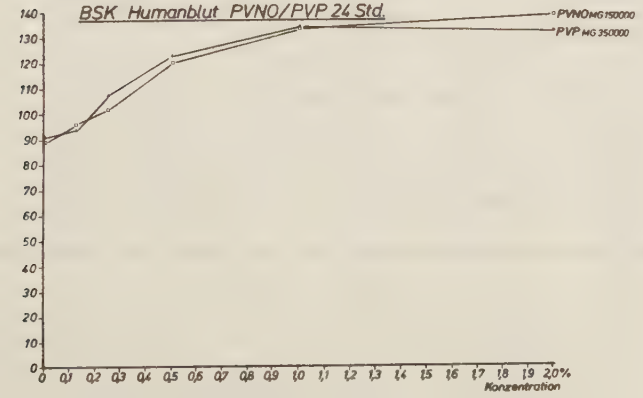
Wie Tabelle 4 zeigt, bestätigen auch die in vitro-Versuche mit Humanblut die beschleunigende Wirkung der Lösungen von Polymeren mit hohem Molekulargewicht auf die Blutsenkungsgeschwindigkeit. Wie aus den in vivo-Versuchen bei Ratten und Kaninchen kann man auch hier ablesen, daß die beschleunigende Wirkung vom Molekulargewicht der Verbindung und der Konzentration der Polymerlösung abhängig ist: je höher das Molekulargewicht und je höher die Konzentration, umso höher ist die Senkungsgeschwindigkeit. PVNO und PVP 350 000 wirken in der Konzentration von 2% bis 0,125% und zwar nahezu proportional zur Konzentration.
Bei PVP 40 000 ist eine Beschleunigung nur bis zur Konzentration 0,25% deutlich gegenüber der Kontrolle, bei PVP 25 000 nur bis zur Konzentration 0,5%, während PVP 10 000 im Bereich der Kontrolle bleibt.

Die folgenden Diagramme verdeutlichen dieses Ergebnis.




BSK Humanblut PVNO/PVP 2Std.
BSK-Werte
PVNO MG 150.000
PVP MG 350.000
PVP MG 40.000
PVP MG 25.000
PVP MG 10.000
Konzentration


BSK Humanblut PVNO/PVP 5Std.
BSK-Werte
PVNO MG 150.000
PVP MG 350.000
PVP MG 25.000
PVP MG 40.000
PVP MG 10000
Konzentration


BSK Humanblut PVNO/PVP 24 Std.
PVNO MG 150000
PVP MG 350000
Konzentration

| | 1 h | | | | | 2 h | | | | | 5 h | | | | | 24 h | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Substanz → / Konzentr. ↓ | PVP 350000 MG | PVNO 150000 MG | PVP 40000 MG | PVP 25000 MG | PVP 10000 MG | PVP 350000 MG | PVNO 150000 MG | PVP 40000 MG | PVP 25000 MG | PVP 10000 MG | PVP 350000 MG | PVNO 150000 MG | PVP 40000 MG | PVP 25000 MG | PVP 10000 MG | PVP 350000 MG | PVNO 150000 MG |
| 0,125 % | 12 | 10,5 | 1,5 | 4,5 | 4,5 | 35,5 | 22,5 | 6 | 15 | 14,5 | 76 | 52,5 | 24 | 52,5 | 51,5 | 94 | 96 |
| 0,25 % | 21 | 14 | 2,5 | 5 | 4 | 54 | 34 | 8 | 16,5 | 14 | 87 | 70,5 | 29 | 54,5 | 50 | 108 | 102 |
| 0,5 % | 43,5 | 28 | 3 | 6 | 4 | 83 | 65 | 11 | 18 | 13 | 112 | 90,5 | 35,5 | 58,5 | 48 | 123 | 120 |
| 1,0 % | 88 | 70,5 | 6 | 7 | 5 | 126 | 107 | 20 | 20,5 | 14 | 132 | 126,5 | 50 | 64 | 50 | 134 | 133 |
| 2,0 % | 125,5 | 129,5 | 19 | 9,5 | 4,5 | 129,5 | 134,5 | 46 | 28 | 13,5 | 132 | 136,5 | 73,5 | 74,5 | 50,5 | 132,5 | 139 |
| Kontrolle m. NaCl | 9 | 8 | 1,3 | 5 | 5 | 25 | 13 | 5 | 14,5 | 14,5 | 68,5 | 32 | 20 | 48 | 48 | 91 | 89,5 |

## 4. DISKUSSION DER ERGEBNISSE AUS DEN SENSIBILISIERUNGSVERSUCHEN AM KANINCHEN, DER HUMANTESTUNG UND DEN SENKUNGSVERSUCHEN

Wir wollten mit unserer Fragestellung, ob wir beim Kaninchen die Bildung praezipitierender Antikörper gegen PVNO auslösen können, der Klärung der beim Menschen beschriebenen Unverträglichkeitserscheinungen näher kommen.
Unsere Resultate waren negativ, das heißt, wir konnten keine Antikörper gegen PVNO im Tierversuch nachweisen. Außerdem zeigten die Kaninchen und auch die Ratten (Senkungsversuche) keine Reaktionen auf die intravenöse Injektion von PVNO, weder in sehr kleinen Mengen (Sensibilisierungsversuch) noch in größeren Mengen (Senkungsversuche). Auch in den Berichten von vielen anderen Tierversuchen, die unter verschiedenen Gesichtspunkten mit PVNO durchgeführt wurden, fanden wir keinen Hinweis darauf, daß Unverträglichkeitserscheinungen aufgetreten wären. Schon in der ersten Veröffentlichung über die Wirksamkeit von PVNO berichteten SCHLIPKÖTER und BROCKHAUS (1961), daß Kaninchen bis 100 mg/kg PVNO als 1%ige intravenöse Injektion reaktionslos vertragen haben. Selbst Injektionen bei Pavianen (es wurden 200 mg/kg PVNO als 1%ige Lösung, 2 bis 3 ml pro min appliziert (SARTWELL et al., 1976), verliefen reaktionslos.
Daß die Deutung der kollapsartigen Symptome beim Menschen als anaphylaktische Reaktion nach einem Behandlungsintervall fragwürdig ist, zeigen die negativen Ergebnisse der Blutuntersuchungen der Patienten.
Nach GILL und KUNZ (1968) ist die Antigenität eine Eigenschaft der meisten, wenn nicht aller Makromoleküle.Sie halten die Oberflächentopographie für den

kritischen Strukturparameter in der Wechselwirkung mit der immunkompetenten Zelle, ohne Rücksicht auf sonstige Verschiedenheiten der Substanzen. Sie sehen beim PVP in der Struktur - N - C = O - eine Ähnlichkeit mit einer Peptidbindung - NH - C = O - und im heterocyclischen Ring das Modell für eine aromatische Aminosäure. Mit diesen Struktureigenschaften bzw. -ähnlichkeiten erklären sie die gefundene antigene Wirkung von PVP.

Daß MAURER (1956) und auch andere Autoren (sie werden in der Arbeit von GILL und KUNZ (1968) genannt) keine Antikörper gegen PVP bei Kaninchen und anderen Tierspezies erzeugen konnten, führen GILL und KUNZ (1968) darauf zurück, daß wahrscheinlich zu viel Antigen gegeben worden sei, so daß Immunparalyse aufgetreten sei, wie MAURER (1956) selbst schon vermutet hat. Sie bewerten das Verhältnis zwischen der Struktur des Antigens und der Menge, die zur Immunisation nötig ist, als entscheidend ; kleine Dosen eines schwachen Antigens fördern die Antikörperbildung und größere Dosen induzieren Immunparalyse. Auf diesen Gedanken bauten sie ihre Arbeit auf und konnten bei weißen Neuseelandkaninchen Antikörper gegen PVP (M 180 000) und 3 weitere Polymere nachweisen, und zwar erzeugten sie durch die niedrigen Dosen von 10 und 1 µg bessere Immunantworten als durch 100 µg, insgesamt aber nahm der Antikörperstickstoff pro ml Serum nach jeder Boosterung bzw. Blutentnahme ab. Die Schwankungen im Antikörperspiegel (mehrfach null) werden mit der Hypothese begründet, daß zwischen der immunologischen Stimulation und der Immunparalyse ein Gleichgewicht bestehe, das durch die Struktur des Antigens bestimmt werde.

Außerdem erwähnen sie eine Beobachtung anderer Autoren, daß der genetic background der Tiere augenscheinlich mit-

bestimmend sei für den Antikörperspiegel, da er zwischen den Tierarten und den Rassen einer Art unterschiedlich hoch ausfalle.
Bei GILL und KUNZ (1968) finden wir keine Angaben über Kontrollgruppen oder Blutkontrollen vor Beginn der Sensibilisierung. KABAT (1971) aber fordert: "Bei Untersuchung eines Antigens, dessen Eigenschaften unbekannt sind, ist es absolut unerläßlich, vor Beginn der Immunisierungsversuche den Tieren eine Serumprobe zu entnehmen." Aus ihrer Arbeit geht nicht hervor, ob GILL und KUNZ (1968) sich an diesen Grundsatz gehalten haben. Dadurch verlieren ihre Ergebnisse an Aussagekraft. Bei der Betrachtung ihrer Antikörperstickstoffangaben in /ug pro ml Serum fällt auf, daß nach der dritten Blutentnahme (zweiten Boosterung) von 14 Werten 12 gleich Null sind; nach der vierten Blutentnahme stehen für PVP keine Angaben mehr. Hier unterscheiden sich unsere negativen Ergebnisse nicht wesentlich von den genannten. Aus diesem Tatbestand folgern wir, daß nicht nur die Oberflächenstruktur und die Menge des Antigens entscheidend für die Antikörperbildung sein können, sondern daß weit mehr andere Faktoren im komplizierten Gefüge der Antigen-Antikörper-Reaktion eine entscheidende Rolle spielen, die wir mit dieser Versuchsanordnung offensichtlich nicht erfassen und berücksichtigen können.

Für die geklagten Beschwerden nach PVNO-Applikation beim Menschen ist die Erklärung naheliegend, daß es sich um Störungen der Mikrozirkulation handelt, die sich bis zu Schocksymptomen auswirken können. Möglicherweise auch um eine anaphylaktoide Reaktion ohne Vorhandensein von Antikörpern, die klinisch nicht von einer Anaphylaxie zu unterscheiden wäre (RAAB, 1975).

Die Störung der Mikrozirkulation, die durch PVNO hervorgerufen werden kann, betrifft die Zusammenballung der Erythrozyten, das sog. "Sludgephaenomen" und die daraus folgende Hypozirkulation, die nach MEERBACH et al. (1977) mitverantwortlich ist für intravasale Gerinnungsvorgänge, die zu Mikrothromben führen und damit eine wesentliche Grundlage für das Entstehen eines Schockes liefern. MEERBACH et al. (1977), die gezielt "intravaskuläre Gerinnungsstörungen durch eine direkte Aktivierung des Gerinnungssystems ausgelöst" haben, beschreiben Schädigungen an den Endothelien der Lungenstrombahn, für die sie "in erster Linie eine hypoxaemische Schädigung im Rahmen schockbedingter Zirkulationsstörungen, verbunden mit multiplen Mikrothrombosierungen", verantwortlich machen.
Diese neuen Ergebnisse bestätigen, was in unseren früheren Arbeiten als die Wirkung intravasaler Erythrozytenaggregate auf die Endstrombahn in der Lunge beschrieben wurde.
Daß solche Schockreaktionen bei der Anwendung von PVNO nur bei Patienten mit einer schweren Silikose aufgetreten sind, hängt wahrscheinlich mit ihrer stark vorgeschädigten Lunge zusammen, die wesentlich empfindlicher auf Störungen des Blutflusses in den kleinsten Gefäßen reagiert, wenn PVNO die Erythrozyten agglutiniert.
Mit den Versuchen zur Wirkung von PVNO und PVP auf die Blutsenkungsgeschwindigkeit wollten wir nochmals deutlich machen, wie Makromoleküle erhöhend auf die Senkungsgeschwindigkeit einwirken. Für PVP und andere Kolloide ist dieses Verhalten schon mehrfach untersucht worden, für PVNO nicht in demselben Maß. Deshalb schien uns eine Bestätigung der Wirkung von PVNO notwendig.
Die Ergebnisse unserer Versuche haben gezeigt, daß die Erhöhung der Senkungsgeschwindigkeit vom Molekulargewicht

und der applizierten Dosis der Polymeren abhängig ist.
Der Rückschluß, daß sich PVNO wie PVP an die Oberfläche der Erythrozyten adsorbiert und die Blutkörperchen agglomeriert, muß aus diesen Versuchen gezogen werden. Dieser Effekt kann zu Störungen der Mikrozirkulation führen, die im Einzelfall klinische Bedeutung erlangen können.
Für PVP sind diese Eigenschaften lang bekannt (HECHT und WEESE erwähnen schon 1943 in ihrer Veröffentlichung über Periston, daß es eine Erhöhung der Blutsenkungsgeschwindigkeit bewirkt) und gründlich untersucht worden (Literatur siehe bei HAHN (1961) und wir weisen besonders auf die Arbeiten von HUMMEL und seinen Schülern hin (1950, 1954, 1963).
Wir verweisen außerdem auf die Arbeiten von NOVER und BERNEAUD-KÖTZ (1961), da die Autoren den "körnigen Zerfall der Blutsäule" bis zur "regelrechten Segmentierung" an den Bindehautgefäßen von Kaninchen sichtbar gemacht haben. Die Veränderungen beginnen sichtbar zu werden bei der intravenösen Injektion von je 20 ml einer 10%- bzw. 20%igen Lösung von PVP (M 55 000). Es ist bemerkenswert, daß von den Tieren trotz sichtbarer Erythrozytenaggregate, die bei der Anwendung von PVP (M 810 000) mehrere Tage bestanden, keine weiteren pathologischen Reaktionen berichtet werden. Die Autoren stellten eine Abhängigkeit der Wirkung vom Molekulargewicht und der Konzentration der Lösung fest. Es ist also ein massives Angebot (hochprozentige Lösung) bzw. höheres Molekulargewicht des Polymeren erforderlich, um das Phänomen voll ausgeprägt darstellen zu können. Die pathologischen Erythrozytenaggregate werden von NOVER und BERNEAUD-KÖTZ (1961) als sehr rigide beschrieben, sie zerfielen nicht an Strömungshindernissen und Gefäßkrümmungen und paßten sich nur schwer den Windungen der Ge-

fäße an. Auch wegen dieser Eigenschaften lassen sich Störungen der Mikrozirkulation durch Erythrozytenaggregate erwarten. Um diese zu vermeiden, sollte PVNO nie in größeren Mengen rasch intravenös gespritzt werden. Es ist notwendig, bei der klinischen Anwendung darauf zu achten, daß das PVNO sehr gut verdünnt wird, d.h. nur als Infusion appliziert wird, um Störungen in den Fließeigenschaften des Blutes zu verhindern. Das Molekulargewicht des von uns benutzten PVNO beträgt 150 000, die Konzentration der Lösung 2%, und da es ähnlich wie PVP auf die Blutsenkung einwirkt, muß man damit rechnen, daß es (wie auch andere Makromoleküle) zur Erythrozytenaggregation führt.
So einleuchtend die Vorstellung über die Störung der Mikrozirkulation auch ist, so müssen wir doch in Erwägung ziehen, ob es sich bei den beschriebenen Symptomen bei der Anwendung von PVNO nicht auch um eine anaphylaktoide Reaktion gehandelt haben könnte. Nach RAAB (1975) ist es durchaus möglich, daß schwere Schockreaktionen ohne signifikante Veränderungen des Plasmahistaminspiegels auftreten können. Er unterscheidet zwischen Anaphylaxie und Anaphylaktoidie, wie er in der folgenden Tabelle deutlich macht:

Die wichtigsten Unterschiede zwischen anaphylaktischen und anaphylaktoiden Reaktionen

| | anaphylaktisch | anaphylaktoid |
|---|---|---|
| Reaktion bei Erstkontakt | - | + |
| Latenzperiode nach Erstkontakt | + | - |
| Erfordernis von Antikörpern | + | - |
| Dosisabhängigkeit der Reaktion | -[1] | + |
| Intrakutanteste mit niedrigen Konzentrationen | + | - |

Fortsetzung

| | anaphylaktisch | anaphylaktoid |
|---|---|---|
| Intrakutanteste mit hohen Konzentrationen | + | +[2] |
| Tachyphylaxie, gekreuzte Tachyphylaxie | + | + |
| Klinisches Bild | identisch | |
| Histologisches Bild | identisch | |

[1]Das Fehlen einer Dosisabhängigkeit gilt nicht bei allen quantitativen Beziehungen Antigen - Antikörper

[2]gilt für Sofort- und Spätreaktionen

nach RAAB (1975)

Bei der Betrachtung der Synopsis dieser Tabelle sind auffallende Übereinstimmungen unserer PVNO-Ergebnisse mit der anaphylaktoiden Reaktion festzuhalten, im Unterschied zu einer anaphylaktischen. Folgende Punkte treffen sowohl für "PVNO" als auch für eine Anaphylaktoidie zu, stehen aber im Gegensatz zur Anaphylaxie: Reaktion bei Erstkontakt; keine Latenzperiode nach Erstkontakt; kein Erfordernis von Antikörpern; Intrakutantests mit niedriger Konzentration negativ. Über die Dosisabhängigkeit der Reaktion bei PVNO ist schwer zu urteilen, da wir im Tierversuch keine vergleichbaren Reaktionen gefunden haben und die Zwischenfälle in der Humanmedizin nicht auf ihre Dosisabhängigkeit geprüft wurden.
Da Anaphylaxie und Anaphylaktoidie sich in den übrigen Punkten nicht unterscheiden, vor allem nicht im

klinischen Bild, kann nicht ausgeschlossen werden, daß die PVNO-Zwischenfälle auf einer anaphylaktoiden Reaktion beruhen könnten und nach diesen Überlegungen die Deutung der Reaktion als anaphylaktische nicht aufrecht erhalten werden kann. RING (1978) beschreibt solche anaphylaktoiden Reaktionen nach Gaben kolloidaler Volumenersatzmittel und folgert: "Alle derzeit verfügbaren kolloidalen Volumenersatzmittel können u.U. lebensbedrohliche anaphylaktoide Reaktionen auslösen."

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die bei der klinischen Anwendung von PVNO in seltenen Fällen beobachteten Unverträglichkeitserscheinungen, die als immunologische Reaktion gedeutet wurden, bei denen PVNO als Antigen wirken sollte, können nach den Ergebnissen unserer Versuche und der Interpretation der Versuchsergebnisse unter Beachtung verschiedener Tatbestände nur als Störungen der Mikrozirkulation mit möglicher Schockfolge oder als anaphylaktoide Reaktion, vielleicht auch als eine unbekannte Kombination beider Reaktionen, erklärt werden. Die immunologische Interpretation ließ sich nach unserer derzeitigen Kontrolle nicht aufrechterhalten, muß jedoch mit den heute bekannten sensibleren Tests zum Nachweis von Antikörpern oder zirkulierenden Antigen-Antikörper-Komplexen weiter überprüft werden.

## 5. ZUSAMMENFASSUNG

Der Versuch, bei gesunden und quarzbehandelten Kaninchen nach Injektion von PVNO-und PVP-Lösungen Antikörper dagegen nachzuweisen, gelang nicht. Eine Sensibilisierung wurde mit Dosen im µg- und mg-Bereich versucht: Zum Nachweis von Antikörpern wurden drei in vitro-Methoden und

eine Intrakutantestung durchgeführt. Dieselben Methoden wurden auch angewendet, um zu prüfen, ob aus dem Blut eines silikosekranken Patienten, der mit PVNO behandelt worden war und einen kollapsartigen Zustand bei wiederholter Infusion der Substanz erlitten hatte, Antikörper gegen PVNO nachzuweisen sind. Es konnten auch bei diesem Patienten keine Antikörper nachgewiesen werden.
Mit Hilfe der Senkungsversuche wird von der erhöhenden Wirkung der beiden Polymere PVNO und PVP auf die Blutsenkungsgeschwindigkeit berichtet. Die Wirkung auf die Erythrozytensenkungsgeschwindigkeit, die von verschiedenen Autoren an gewaschenen und resuspendierten Erythrozyten schon untersucht und beschrieben wurde, wird an Ratten und Kaninchen nach Injektion von PVNO und an Humanblut in vitro nachgewiesen. Damit wird die Vorstellung, daß die polymeren Substanzen eine Zusammenballung von Erythrozyten bewirken und zur Mikrothrombenbildung beitragen, gestützt.
Die Interpretation eines klinischen Zwischenfalles als Folge einer Antigen-Antikörper-Reaktion wird in Frage gestellt. Als Erklärung der Unverträglichkeitserscheinungen werden eine Bildung von erythrozytären Mikrothromben in den kleinen Lungengefäßen mit möglicher Schockfolge oder eine anaphylaktoide Reaktion ohne Beteiligung von Antikörpern, möglicherweise aber auch eine Kombination beider Phaenomene diskutiert.
Es muß jedoch abschließend noch einmal unterstrichen werden, daß wir auf Grund der durchgeführten Untersuchungen nur sagen können, daß mit den uns damals zur Verfügung stehenden Methoden keine Antikörper nachgewiesen werden konnten. Ob man mit sensibeleren Methoden zum Antikörpernachweis zu anderen Erkenntnissen gelangen kann, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

## 6. LITERATUR

AICHINGER, G.: persönliche Mitteilung 1976.

ANTWEILER, H.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Wirkungsweise des Polyvinylpyridin-N-oxids (P 204).
Beitr. Silikose-Forsch., S-Bd Grundfragen Silikoseforsch., 5 (1963), 153-169.

ANTWEILER, H. und T.T. DJIE: Untersuchungen zur Adsorption von Poly-2-vinylpyridin-N-oxid an Quarzteilchen.
Beitr.Silikoseforsch. (Pneumokoniose), 2 (1972), 59-90.

ANTWEILER, H. und H.-W. SCHLIPKÖTER: Zur Frage einer Histamin-Freisetzung durch Polyvinylpyridin-N-oxid-Injektion beim Menschen.
Arbeitsmed., Sozialmed., Präventivmed., 8 (1973), 237-239.

ANTWEILER, H. und M. MEYER-HAMMER: Kann Polyvinylpyridin-N-oxid antigen wirken?
Zbl.Bakt.Hyg., I.Abt., Orig. B 160 (1975),65-68.

EISEN, H.N.: Ultraviolet Absorption Spectroscopy of Immune Precipitates.
J.Immunology, 60 (1948), 77-83.

GILL, T. and P. DOTY: The Immunochemical Properties Of A Group Of Linear Synthetic Polypeptides.
J.Biol.Chem., 36 (1961), 2677-2683.

GILL, T.J. III and H.W. KUNZ: The Immunogenicity Of Vinyl Polymers.
Proc.New York Acad.Sci., 61 (1968), 490-496.

GITLIN, D.: Use Of Absorption Spectroscopy In The Quantitative Precipitin Reaction.
J.Immunology, 62 (1949), 437-451.

HAHN, F.: Zur Pharmakologie und Toxikologie körperfremder kolloidaler Blutersatzmittel.
Bibl.haemat., 12 (1961), 137-172.

HECHT, G. und H. WEESE: Periston, ein neuer Blutflüssigkeitsersatz.
Münch.Med.Wschr., 90 (1943), 11-15.

HUMMEL, K.: Über eine wesentliche Verkürzung der Blutkörperchensenkungsreaktion in der Praxis.
Med.Klinik, 45 (1950), 998-999.

HUMMEL, K.: Quantitative Untersuchungen über die Bindung von Polyvinylpyrrolidon an die Erythrocytenoberfläche.
Blut, 8 (1963), 237-251.

HUMMEL, K. und K. FAAS: Über den agglomerierenden und senkungsbeschleunigenden Einfluß wässerig gelöster makromolekularer Stoffe auf menschliche und tierische Erythrocyten.
Z.Immunitätsforsch., 11 (1954), 354-371.

HUMMEL, K. und L. von SZCZEPANSKI: Quantitative Untersuchungen über die Bindung von Polyvinylpyrrolidon an die Erythrocytenoberfläche.
Blut, 9 (1963), 145-164.

KABAT, E.: Einführung in die Immunchemie und Immunologie.- Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verl. 1971.

KUHKALANI, G.-R.: Verträglichkeitsprüfung des Poly-2-Vinylpyridin-N-Oxid (PVNO) bei klinischer Anwendung an Silikosekranken. Med.Inaug.Diss. Düsseldorf 1975.

MAURER, P.: The Antigenicity of Polyvinyl Pyrrolidone I[1,2]. J.Immunology, 77 (1956), 105-110.

MAURER, P.: The Antigenicity of Polyvinyl Pyrrolidone II[1,2]. J.Immunology, 79 (1957), 84-88.

MEERBACH, W., K.-D. RÜDIGER und W. WÖCKEL: Tierexperimentelle Untersuchungen zum Problem der disseminierten intravaskulären Gerinnung. Ex.Pathologie, 13 (1977), 58-67.

NOVER, A. und G. BERNEAUD-KÖTZ: Beobachtungen am Auge über den Einfluß von Fremdkolloiden auf die Mikrozirkulation. Klin.Wschr., 39 (1961), 137-139.

RAAB, W.: Pathomechanismen der unerwünschten Reaktionen bei Gabe von Plasmaersatzmitteln. Klin.Anaesth.Intensivther., 9 (1975), 36-47.

RING, J.: Anaphylaktoide Reaktionen nach Infusion natürlicher und künstlicher Kolloide.- Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verl. 1978.

SARTWELL, R.J. et al.: PVNO protection of baboons against experimentally-induced silicosis.- Huntingdon/ Cambridgeshire: Huntingdon Research Centre 1975.

SCHLIPKÖTER, H.-W. und A. BROCKHAUS: Die Hemmung der experimentellen Silikose durch subcutane Verabreichung von Polyvinylpyridin-N-oxid. Klin.Wschr., 39 (1961), 1182-1189.

SINGER, J.M. and C.M. PLOTZ: The Latex Fixation Test- Amer.J.Med., 21 (1956), 888-892.

STEFFEN, C.: Allgemeine und experimentelle Immunologie, sowie ihre klinische Anwendung.- Stuttgart: Georg Thieme Verl. 1968.

Herrn Prof.Dr. Antweiler ( † ) möchte ich für die Überlassung des Themas, für seine Ratschläge zur Durchführung und für manche Diskussion danken.

Herrn Prof.Dr. Schlipköter danke ich sehr herzlich für sein Verständnis dafür, daß Frauen mit Familienpflichten auf eine Halbtagsstelle angewiesen sind, die er mir in dem unter seiner Leitung stehenden Institut als wiss. Mitarbeiterin eingeräumt hat.

Frau Dr. Eckardt und Frau Nawrath unterstützten mich bei den statistischen Berechnungen. Beiden möchte ich danken.

Für die technische Assistenz sei den Damen Küppers, Löhe und Wimberger gedankt.

LEBENSLAUF

Am 26. Juli 1937 wurde ich, Marianne Meyer-Hammer, geb. Hammer als Tochter der Eheleute Richard und Lotti Hammer, geb. Bogenhardt in Bad Überkingen (Kreis Göppingen) geboren. Dort besuchte ich die Grundschule. Die Gymnasialzeit verbrachte ich auf den Oberschulen Geislingen/Steige und Neckarsulm sowie auf der Städt. Luisenschule Düsseldorf (mathem.-naturwiss. Gymnasium), wo ich am 28.2.1957 die Reifeprüfung ablegte.

An den Universitäten Heidelberg, Freiburg, Münster und Bonn studierte ich vom WS 1957/58 an Medizin (2 Urlaubssemester) und beendete das Studium mit dem medizinischen Staatsexamen am 24. September 1964. Nach Ableistung der 2-jährigen Medizinalassistentenzeit erhielt ich am 30. April 1967 meine Approbation als Arzt.

Aus familiären Gründen (Heirat 1963 mit Friedhelm Meyer, 5 Söhne 1966, 1967, 1970, 1978, 1982) nahm ich erst ab 1. November 1972 als wissenschaftliche Mitarbeiterin im Medizinischen Institut für Umwelthygiene an der Universität Düsseldorf eine halbtägige Berufstätigkeit auf, wo ich zur Zeit weiterhin beschäftigt bin.

Copy + Sofortdruck GmbH

Bilker Allee 173 4000 Düsseldorf 1 Telefon 02 11/31 70 20

Copy-, Offsetdrucke, Xerox-Kopien, Repros, Binden, Papierverarbeitung